

# ニューカッスル病・鶏伝染性気管支炎2価・産卵低下症候群-1976・鶏伝染性コリーザ（A・C型）・マイコプラズマ・ガリセプチカム感染症混合（油性アジュバント加）不活化ワクチン（シード）

令和2年8月28日（告示第1689号）新規追加

## 1 定義

シードロット規格に適合したニューカッスル病ウイルス及び血清型のそれぞれ異なる2種類の鶏伝染性気管支炎ウイルスを同規格に適合した発育鶏卵で増殖させて得たウイルス液、同規格に適合した産卵低下症候群-1976ウイルスを同規格に適合した発育あひる卵で増殖させて得たウイルス液並びに同規格に適合したヘモフィルス・パラガリナルム（A型及びC型菌）及びマイコプラズマ・ガリセプチカムの培養菌液をそれぞれ不活化したものに油性アジュバントを添加し、混合したワクチンである。

## 2 製法

### 2.1 製造用株

#### 2.1.1 ニューカッスル病ウイルス

##### 2.1.1.1 名称

ニューカッスル病ウイルスUlster2C株又はこれと同等と認められた株

##### 2.1.1.2 性状

10日齢の発育鶏卵の尿膜腔内に注射すると増殖し、その尿膜腔液には鶏赤血球凝集性を認める。

#### 2.1.1.3 マスターシードウイルス

##### 2.1.1.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシードウイルスは、SPF動物規格の1.1に適合した発育鶏卵で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。

分注したマスターシードウイルスは、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して-70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。

マスターシードウイルスについて、3.1.1の試験を行う。

マスターシードウイルスは、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシードウイルスから小分製品までの最高継代数は、5代以内でなければならない。

#### 2.1.1.4 ワーキングシードウイルス

##### 2.1.1.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシードウイルスは、SPF動物規格の1.1に適合した発育鶏卵で増殖及び継代する。

ワーキングシードウイルスは、凍結して-70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。

ワーキングシードウイルスについて、3.1.2の試験を行う。

#### 2.1.1.5 プロダクションシードウイルス

##### 2.1.1.5.1 増殖及び保存

プロダクションシードウイルスは、SPF動物規格の1.1に適合した発育鶏卵で増殖させる。

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、凍結して-70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、3.1.3の試験を行う。

#### 2.1.2 鶏伝染性気管支炎ウイルス

##### 2.1.2.1 名称

鶏伝染性気管支炎ウイルスM41及びMie株、又はこれらと同等と認められた2種類の株

#### 2.1.2.2 性状

9～11日齢の発育鶏卵の尿膜腔内に注射すると、鶏胚に特徴的な病変を伴って増殖する。

#### 2.1.2.3 マスターシードウイルス

##### 2.1.2.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシードウイルスは、SPF動物規格の1.1に適合した発育鶏卵で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。

分注したマスターシードウイルスは、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して $-70^{\circ}\text{C}$ 以下又は凍結乾燥して $5^{\circ}\text{C}$ 以下で保存する。

マスターシードウイルスについて、3.1.1の試験を行う。

マスターシードウイルスは、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシードウイルスから小分製品までの最高継代数は、5代以内でなければならない。

#### 2.1.2.4 ワーキングシードウイルス

##### 2.1.2.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシードウイルスは、SPF動物規格の1.1に適合した発育鶏卵で増殖及び継代する。

ワーキングシードウイルスは、凍結して $-70^{\circ}\text{C}$ 以下又は凍結乾燥して $5^{\circ}\text{C}$ 以下で保存する。

ワーキングシードウイルスについて、3.1.2の試験を行う。

#### 2.1.2.5 プロダクションシードウイルス

##### 2.1.2.5.1 増殖及び保存

プロダクションシードウイルスは、SPF動物規格の1.1に適合した発育鶏卵で増殖させる。

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、凍結して $-70^{\circ}\text{C}$ 以下又は凍結乾燥して $5^{\circ}\text{C}$ 以下で保存する。

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、3.1.3の試験を行う。

#### 2.1.3 産卵低下症候群-1976ウイルス

##### 2.1.3.1 名称

産卵低下症候群-1976ウイルスMcFerran127株又はこれと同等と認められた株

##### 2.1.3.2 性状

鶏胚肝初代細胞及びあひる胚初代細胞でCPEを伴って増殖する。

##### 2.1.3.3 マスターシードウイルス

##### 2.1.3.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシードウイルスは、SPF動物規格の1.1に適合した鶏胚肝初代細胞で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。

分注したマスターシードウイルスは、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して $-70^{\circ}\text{C}$ 以下又は凍結乾燥して $5^{\circ}\text{C}$ 以下で保存する。

マスターシードウイルスについて、3.1.1の試験を行う。

マスターシードウイルスは、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシードウイルスから小分製品までの最高継代数は、5代以内でなければならない。

##### 2.1.3.4 ワーキングシードウイルス

##### 2.1.3.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシードウイルスは、SPF動物規格の1.1に適合した鶏胚肝初代細胞で増殖及び継代する。

ワーキングシードウイルスは、凍結して $-70^{\circ}\text{C}$ 以下又は凍結乾燥して $5^{\circ}\text{C}$ 以下で保存する。

ワーキングシードウイルスについて、3.1.2の試験を行う。

##### 2.1.3.5 プロダクションシードウイルス

##### 2.1.3.5.1 増殖及び保存

プロダクションシードウイルスは、SPF動物規格の1.1に適合した鶏胚肝初代細胞で増殖させる。

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、凍結して $-70^{\circ}\text{C}$ 以下又は凍結乾燥して $5^{\circ}\text{C}$ 以下で保存する。

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、3.1.3の試験を行う。

## 2.1.4 ヘモフィルス・パラガリナルムA型菌

### 2.1.4.1 名称

ヘモフィルス・パラガリナルムA型菌221株又はこれと同等と認められた株

### 2.1.4.2 性状

鶏及び発育鶏卵に対して病原性を示す。牛、馬、羊、鶏及びモルモットの赤血球を凝集する。

### 2.1.4.3 マスターシード菌

#### 2.1.4.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシード菌は、SPF動物規格の1.1に適合した発育鶏卵で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。

分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して $-70^{\circ}\text{C}$ 以下又は凍結乾燥して $5^{\circ}\text{C}$ 以下で保存する。

マスターシード菌について、3.1.4の試験を行う。

マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの最高継代数は、10代以内でなければならない。

### 2.1.4.4 ワーキングシード菌

#### 2.1.4.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシード菌は、SPF動物規格の1.1に適合した発育鶏卵で増殖及び継代する。

ワーキングシード菌は、凍結して $-70^{\circ}\text{C}$ 以下又は凍結乾燥して $5^{\circ}\text{C}$ 以下で保存する。

ワーキングシード菌について、3.1.5の試験を行う。

### 2.1.4.5 プロダクションシード菌

#### 2.1.4.5.1 増殖及び保存

プロダクションシード菌は、SPF動物規格の1.1に適合した発育鶏卵で増殖させる。

プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して $-70^{\circ}\text{C}$ 以下又は凍結乾燥して $5^{\circ}\text{C}$ 以下で保存する。

プロダクションシード菌を保存する場合は、3.1.6の試験を行う。

## 2.1.5 ヘモフィルス・パラガリナルムC型菌

### 2.1.5.1 名称

ヘモフィルス・パラガリナルムC型菌Modesto株又はこれと同等と認められた株

### 2.1.5.2 性状

鶏及び発育鶏卵に対して病原性を示す。

### 2.1.5.3 マスターシード菌

#### 2.1.5.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシード菌は、SPF動物規格の1.1に適合した発育鶏卵で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。

分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して $-70^{\circ}\text{C}$ 以下又は凍結乾燥して $5^{\circ}\text{C}$ 以下で保存する。

マスターシード菌について、3.1.4の試験を行う。

マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの最高継代数は、10代以内でなければならない。

### 2.1.5.4 ワーキングシード菌

#### 2.1.5.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシード菌は、SPF動物規格の1.1に適合した発育鶏卵で増殖及び継代する。

ワーキングシード菌は、凍結して $-70^{\circ}\text{C}$ 以下又は凍結乾燥して $5^{\circ}\text{C}$ 以下で保存する。

ワーキングシード菌について、3.1.5の試験を行う。

#### 2.1.5.5 プロダクションシード菌

##### 2.1.5.5.1 増殖及び保存

プロダクションシード菌は、SPF動物規格の1.1に適合した発育鶏卵で増殖させる。

プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して $-70^{\circ}\text{C}$ 以下又は凍結乾燥して $5^{\circ}\text{C}$ 以下で保存する。

プロダクションシード菌を保存する場合は、3.1.6の試験を行う。

#### 2.1.6 マイコプラズマ・ガリセプチカム

##### 2.1.6.1 名称

マイコプラズマ・ガリセプチカムR980株又はこれと同等と認められた株

##### 2.1.6.2 性状

鶏に対して病原性を示す。

##### 2.1.6.3 マスターシード菌

###### 2.1.6.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシード菌は、適当と認められた培地で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。

分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して $-40^{\circ}\text{C}$ 以下又は凍結乾燥して $5^{\circ}\text{C}$ 以下で保存する。

マスターシード菌について、3.1.4の試験を行う。

マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの最高継代数は、10代以内でなければならない。

##### 2.1.6.4 ワーキングシード菌

###### 2.1.6.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシード菌は、適当と認められた培地で増殖及び継代する。

ワーキングシード菌は、凍結して $-40^{\circ}\text{C}$ 以下又は凍結乾燥して $5^{\circ}\text{C}$ 以下で保存する。

ワーキングシード菌について、3.1.5の試験を行う。

##### 2.1.6.5 プロダクションシード菌

###### 2.1.6.5.1 増殖及び保存

プロダクションシード菌は、適当と認められた培地で増殖させる。

プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して $-40^{\circ}\text{C}$ 以下又は凍結乾燥して $5^{\circ}\text{C}$ 以下で保存する。

プロダクションシード菌を保存する場合は、3.1.6の試験を行う。

#### 2.2 製造用材料

##### 2.2.1 ニューカッスル病ウイルス

###### 2.2.1.1 発育鶏卵

###### 2.2.1.1.1 マスターシードウイルス、ワーキングシードウイルス及びプロダクションシードウイルスの増殖、継代及び保存に用いる発育鶏卵

SPF動物規格の1.1に適合した9～11日齢のものを用いる。

マスターシードウイルス及びワーキングシードウイルスを増殖、継代及び保存する場合の発育鶏卵又はプロダクションシードウイルスを増殖及び保存する場合の発育鶏卵について、3.2の試験を行う。

###### 2.2.1.1.2 原液の製造に用いる発育鶏卵

9～11日齢のものを用いる。

##### 2.2.2 鶏伝染性気管支炎ウイルスの各株

###### 2.2.2.1 発育鶏卵

#### 2.2.2.1.1 マスターシードウイルス、ワーキングシードウイルス及びプロダクションシードウイルスの増殖、継代及び保存に用いる発育鶏卵

SPF動物規格の1.1に適合した10～12日齢のものを用いる。

マスターシードウイルス及びワーキングシードウイルスを増殖、継代及び保存する場合の発育鶏卵又はプロダクションシードウイルスを増殖及び保存する場合の発育鶏卵について、3.2の試験を行う。

#### 2.2.2.1.2 原液の製造に用いる発育鶏卵

10～12日齢のものを用いる。

#### 2.2.3 産卵低下症候群－1976ウイルス

#### 2.2.3.1 マスターシードウイルス、ワーキングシードウイルス及びプロダクションシードウイルスの増殖、継代及び保存に用いる初代細胞

SPF動物規格の1.1に適合した鶏胚肝初代細胞を用いる。

#### 2.2.3.2 培養液

製造に相当と認められた培養液を用いる。

#### 2.2.3.3 マスタープライマリーセルシード（プロダクションプライマリーセルシード）

##### 2.2.3.3.1 増殖、継代及び保存

マスタープライマリーセルシード（プロダクションプライマリーセルシード）は、2.2.3.2の培養液で増殖し、継代及び保存しない。

マスタープライマリーセルシード（プロダクションプライマリーセルシード）について、3.3の試験を行う。

#### 2.2.3.4 原液の製造に用いる発育あひる卵

製造に相当と認められた9～11日齢のものを用いる。

#### 2.2.4 ヘモフィルス・パラガリナルムの各型菌

##### 2.2.4.1 発育鶏卵

#### 2.2.4.1.1 マスターシード菌、ワーキングシード菌及びプロダクションシード菌の増殖、継代及び保存に用いる発育鶏卵

SPF動物規格の1.1に適合した3～8日齢のものを用いる。

マスターシード菌及びワーキングシード菌を増殖、継代及び保存する場合の発育鶏卵又はプロダクションシード菌を増殖及び保存する場合の発育鶏卵について、3.2の試験を行う。

#### 2.2.4.2 培地

##### 2.2.4.2.1 原液の製造に用いる培地

製造に相当と認められた培地を用いる。

#### 2.2.5 マイコプラズマ・ガリセプチカム

##### 2.2.5.1 培地

製造に相当と認められた培地を用いる。

#### 2.3 原液

##### 2.3.1 ニューカッスル病ウイルス原液

###### 2.3.1.1 発育鶏卵の培養

1回に処理する発育鶏卵を個体別発育鶏卵とみなす。

個体別発育鶏卵について、3.4の試験を行う。

###### 2.3.1.2 ウイルスの培養

プロダクションシードウイルスを2.3.1.1の発育鶏卵で培養し、感染増殖させた尿膜腔液のろ液又は遠心上清、又はこれを相当と認められた方法で濃縮したものをウイルス浮遊液とする。

ウイルス浮遊液について、3.5.1.1の試験を行う。

###### 2.3.1.3 不活化

ウイルス浮遊液を相当と認められた方法により不活化したもの、又はこれを濃縮したものを不活

化ウイルス浮遊液とする。

不活化ウイルス浮遊液について、3.7.1及び3.7.2.1の試験を行う。

#### 2.3.1.4 アジュバントの添加

不活化ウイルス浮遊液に相当と認められた油性アジュバントを添加し、原液とする。

原液について、3.9の試験を行う。

#### 2.3.2 鶏伝染性気管支炎ウイルスの各株原液

##### 2.3.2.1 発育鶏卵の培養

1回に処理する発育鶏卵を個別発育鶏卵とみなす。

個別発育鶏卵について、3.4の試験を行う。

##### 2.3.2.2 ウイルスの培養

各株のプロダクションシードウイルスを2.3.2.1の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、感染増殖させた尿膜腔液のろ液又は遠心上清、又はこれを相当と認められた方法で濃縮したものを各株のウイルス浮遊液とする。

ウイルス浮遊液について、3.5.1.2の試験を行う。

##### 2.3.2.3 不活化

各ウイルス浮遊液を相当と認められた方法で濃縮したものをホルマリンで不活化したもの、又はこれを濃縮したものを不活化ウイルス浮遊液とする。

不活化ウイルス浮遊液について、3.7.1及び3.7.2.2の試験を行う。

##### 2.3.2.4 アジュバントの添加

各株の不活化ウイルス浮遊液に相当と認められた油性アジュバントを添加し、それぞれの株の原液とする。

原液について、3.9の試験を行う。

#### 2.3.3 産卵低下症候群-1976ウイルス

##### 2.3.3.1 発育あひる卵の培養

1回に処理する発育あひる卵を個別発育あひる卵とみなす。

個別発育あひる卵について、3.4の試験を行う。

##### 2.3.3.2 ウイルスの培養

プロダクションシードウイルスを2.3.3.1の発育あひる卵の尿膜腔内に注射し、感染増殖させた尿膜腔液のろ液又は遠心上清、又はこれを相当と認められた方法で濃縮したものをウイルス浮遊液とする。

ウイルス浮遊液について、3.5.1.3の試験を行う。

##### 2.3.3.3 不活化

ウイルス浮遊液を相当と認められた方法で濃縮したものをホルマリンで不活化したもの、又はこれを濃縮したものを不活化ウイルス浮遊液とする。

不活化ウイルス浮遊液について、3.7.1及び3.7.2.3の試験を行う。

##### 2.3.3.4 アジュバントの添加

不活化ウイルス浮遊液に相当と認められた油性アジュバントを添加し、原液とする。

原液について、3.9の試験を行う。

#### 2.3.4 ヘモフィルス・パラガリナルムの各型菌原液

##### 2.3.4.1 培養

プロダクションシード菌を製造用培地で培養したものを更に製造用培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。

培養菌液について、3.6.1及び3.6.2.1の試験を行う。

##### 2.3.4.2 不活化

培養菌液にホルマリンを加えて不活化後、相当と認められた方法で濃縮したものを不活化菌液と

する。

不活化菌液について、3.8.1.1の試験を行う。

#### 2.3.4.3 アジュバントの添加

不活化菌液を濃度調整後、適当と認められた油性アジュバントを添加し、原液とする。

原液について、3.9の試験を行う。

#### 2.3.5 マイコプラズマ・ガリセプチカム

##### 2.3.5.1 培養

ワーキングシード菌又はプロダクションシード菌を製造用培地で培養したものを更に製造用培地に接種・継代し、培養したものを培養菌液とする。

培養菌液について、3.6.1及び3.6.2.2の試験を行う。

##### 2.3.5.2 不活化

培養菌液にホルマリンを加えて不活化後、適当と認められた方法で濃縮したものを不活化菌液とする。

不活化菌液について、3.8.1.2の試験を行う。

##### 2.3.5.3 アジュバントの添加

不活化菌液を適当と認められた希釈用液で濃度調整し、油性アジュバントを添加したものを原液とする。

原液について、3.9の試験を行う。

#### 2.4 最終バルク

ニューカッスル病ウイルス原液、鶏伝染性気管支炎ウイルスの各株原液、産卵低下症候群-1976ウイルス原液、ヘモフィルス・パラガリナルム各型菌原液及びマイコプラズマ・ガリセプチカム原液を混合したものを最終バルクとする。

#### 2.5 小分製品

最終バルクを小分容器に分注し、小分製品とする。

小分製品について、3.10の試験を行う。

### 3 試験法

#### 3.1 製造用株の試験

##### 3.1.1 マスターシードウイルスの試験

###### 3.1.1.1 同定試験

シードロット規格の1.4.2.3.1.1.2を準用して試験するとき、適合しなければならない。

###### 3.1.1.2 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

###### 3.1.1.3 マイコプラズマ否定試験

一般試験法のマイコプラズマ否定試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

###### 3.1.1.4 外来性ウイルス否定試験

###### 3.1.1.4.1 共通ウイルス否定試験

一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.1、2.1及び2.2を準用して試験するとき、適合しなければならない。

###### 3.1.1.4.2 特定ウイルス否定試験

###### 3.1.1.4.2.1 特定ウイルス否定一般試験

鶏脳脊髄炎ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.1及び3.1.2を準用して試験するとき、適合しなければならない。ただし、鶏脳脊髄炎ウイルスについて3.1.1.4.2.2に規定する試験を実施する製剤については、本試験を実施しなくてもよい。

###### 3.1.1.4.2.2 個別ウイルス否定試験

鶏白血病ウイルス、細網内皮症ウイルス及び鶏脳脊髄炎ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイ

ルス否定試験法の1.1、3.2.1、3.2.2及び3.2.10を準用して試験するとき、適合しなければならない。ただし、鶏脳脊髄炎ウイルスについて3.1.1.4.2.1に規定する試験を実施する製剤については、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の3.2.10の試験を実施しなくてもよい。

### 3.1.2 ワーキングシードウイルスの試験

#### 3.1.2.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

#### 3.1.2.2 マイコプラズマ否定試験

一般試験法のマイコプラズマ否定試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

### 3.1.3 プロダクションシードウイルスの試験

#### 3.1.3.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

#### 3.1.3.2 マイコプラズマ否定試験

一般試験法のマイコプラズマ否定試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

### 3.1.4 マスターシード菌の試験

#### 3.1.4.1 同定試験

シードロット規格の1.4.2.4.1.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。

#### 3.1.4.2 夾雑菌否定試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

### 3.1.5 ワーキングシード菌の試験

#### 3.1.5.1 夾雑菌否定試験

3.1.4.2を準用して試験するとき、適合しなければならない。

### 3.1.6 プロダクションシード菌の試験

#### 3.1.6.1 夾雑菌否定試験

3.1.4.2を準用して試験するとき、適合しなければならない。

### 3.2 発育鶏卵の試験

#### 3.2.1 孵卵性状試験

シードロット規格の3.2.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。

### 3.3 初代細胞の試験

#### 3.3.1 マスタープライマリーセルシード(プロダクションプライマリーセルシード)の試験

##### 3.3.1.1 培養性状試験

シードロット規格の2.2.4.2.1.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。

##### 3.3.1.2 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

##### 3.3.1.3 マイコプラズマ否定試験

一般試験法のマイコプラズマ否定試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

### 3.4 個体別発育卵の試験

個体別発育鶏卵又は個体別発育あひる卵の1%以上又は30個以上を対照発育卵とし、これについて次の試験を行う。

#### 3.4.1 培養観察

対照発育卵を、ウイルスを接種することなく、ウイルスの培養と同じ条件で培養し、観察するとき、胚に異常を認めてはならない。

#### 3.4.2 鶏赤血球凝集試験

3.4.1の試験最終日に尿膜腔液を採取し、0.5vol%鶏赤血球浮遊液を等量加え、60分間静置し、観察するとき、赤血球凝集を認めてはならない。

### 3.5 ウイルス浮遊液の試験



### 3.5.1 ウイルス含有量試験

#### 3.5.1.1 ニューカッスル病ウイルス

##### 3.5.1.1.1 試験材料

###### 3.5.1.1.1.1 試料

検体をリン酸緩衝食塩液で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

###### 3.5.1.1.1.2 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格1.1に適合した9～11日齢のものを用いる。

###### 3.5.1.1.2 試験方法

試料0.1mLずつをそれぞれ5個以上の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、37℃で5日間培養し、観察する。試験最終日に尿膜腔液を採取し、0.5vol %鶏赤血球浮遊液を用いて赤血球凝集試験を行う。

###### 3.5.1.1.3 判定

尿膜腔液に赤血球凝集を認めたものを感染とみなし、EID<sub>50</sub>を算出する。ただし、24時間以内に死亡したものは、除外する。

検体のウイルス含有量は、1 mL中10<sup>9.0</sup>EID<sub>50</sub>以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合は、そのウイルス含有量とする。

#### 3.5.1.2 鶏伝染性気管支炎ウイルス

##### 3.5.1.2.1 試験材料

###### 3.5.1.2.1.1 試料

検体をリン酸緩衝食塩液で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

###### 3.5.1.2.1.2 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格1.1に適合した9～10日齢のものを用いる。

###### 3.5.1.2.2 試験方法

試料0.1mLずつをそれぞれ5個以上の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、37℃で9日齢を用いた場合は9日間、10日齢を用いた場合は8日間培養し、観察する。試験最終日に鶏胚の変化を観察する。

###### 3.5.1.2.3 判定

鶏胚に死亡又は変性（発育不全、カーリング）を認めたものを感染とみなし、EID<sub>50</sub>を算出する。ただし、24時間以内に死亡したものは、除外する。

検体のウイルス含有量は、1 mL中10<sup>7.0</sup>EID<sub>50</sub>以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合は、そのウイルス含有量とする。

#### 3.5.1.3 産卵低下症候群－1976ウイルス

##### 3.5.1.3.1 試験材料

###### 3.5.1.3.1.1 試料

検体をリン酸緩衝食塩液で2倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

###### 3.5.1.3.1.2 試験方法

試料0.5mLずつをそれぞれ2本以上の試験管に分注し、0.5vol%鶏赤血球浮遊液を加え、静置した後、赤血球凝集の有無を観察する。

###### 3.5.1.3.1.3 判定

赤血球凝集が観察された検体の最高希釈倍数を赤血球凝集素単位とする。

検体の赤血球凝集素単位は、2048倍以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合は、その赤血球凝集素単位とする。

### 3.6 培養菌液の試験

#### 3.6.1 夾雑菌否定試験

3.1.4.2を準用して試験するとき、適合しなければならない。

#### 3.6.2 生菌数試験

##### 3.6.2.1 ヘモフィルス・パラガリナルム

### 3.6.2.1.1 試験材料

#### 3.6.2.1.1.1 試料

検体をリン酸緩衝食塩液又は適当と認められた希釈液で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

#### 3.6.2.1.1.2 培地

ヘモフィルス試験用寒天培地（付記1）又は適当と認められた寒天培地を用いる。

#### 3.6.2.1.2 試験方法

各試料0.1mLずつをそれぞれ2枚以上の培地に接種して培地表面に拡散させ、37°C、5 vol%炭酸ガス下で48時間培養後、集落数を数える。

#### 3.6.2.1.3 判定

各段階の希釈液ごとの集落数から生菌数を算出する。

検体の生菌数は、A型菌では1 mL中 $10^{8.0}$ 個以上、C型菌では1 mL中 $10^{7.5}$ 個以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合は、その生菌数とする。

### 3.6.2.2 マイコプラズマ・ガリセプチカム

#### 3.6.2.2.1 試験材料

##### 3.6.2.2.1.1 試料

検体をマイコプラズマ希釈用培地（付記2）又は適当と認められた希釈液で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする

##### 3.6.2.2.1.2 培地

マイコプラズマ試験用寒天平板培地（付記3）又は適当と認められた寒天培地を用いる。

#### 3.6.2.2.2 試験方法

各試料をそれぞれ2枚以上の培地に接種して培地表面に拡散させ、37°C、5 vol%炭酸ガス下で適当と認められた期間培養後、集落数を数える。

#### 3.6.2.2.3 判定

各段階の希釈液ごとの集落数から生菌数を算出する。

検体の生菌数は、1 mL中 $10^{8.0}$ 個以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合は、その生菌数とする。

### 3.7 不活化ウイルス浮遊液の試験

#### 3.7.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

#### 3.7.2 不活化試験

##### 3.7.2.1 ニューカッスル病ウイルス

###### 3.7.2.1.1 試験材料

###### 3.7.2.1.1.1 注射材料

検体を注射材料とする。

###### 3.7.2.1.1.2 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格1.1に適合した9～11日齢のものを用いる。

###### 3.7.2.1.2 試験方法

注射材料0.2mLずつを10個以上の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、37°Cで7日間培養した後、尿膜腔液を採取し、更に1代継代し、37°Cで7日間培養し、観察する。

試験最終日に尿膜腔液を採取し、0.5vol%鶏赤血球浮遊液を用いて赤血球凝集試験を行う。

###### 3.7.2.1.3 判定

鶏胚は、正常に発育しなければならない、尿膜腔液に赤血球凝集を認めてはならない。

##### 3.7.2.2 鶏伝染性気管支炎ウイルス

###### 3.7.2.2.1 試験材料

#### 3.7.2.2.1.1 注射材料

検体を注射材料とする。

#### 3.7.2.2.1.2 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格1.1に適合した9～10日齢のものを用いる。

#### 3.7.2.2.2 試験方法

注射材料0.2mLずつを10個以上の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、37℃で7日間培養した後、尿膜腔液を採取し、更に1代継代し、37℃で7日間培養し、観察する。

#### 3.7.2.2.3 判定

鶏胚は、正常に発育しなければならない。

#### 3.7.2.3 産卵低下症候群－1976ウイルス

##### 3.7.2.3.1 試験材料

###### 3.7.2.3.1.1 試料

検体を重亜硫酸ナトリウムで中和したものを試料とする。

###### 3.7.2.3.1.2 培養細胞

生ワクチン製造用材料の規格2.1.3の鶏胚肝初代細胞を用いる。

###### 3.7.2.3.2 試験方法

試料2.0mLを90cm<sup>2</sup>以上の培養細胞に接種し、37℃で6～7日間培養した後、その培養上清を採取し、さらに1代継代し、37℃で6～7日間培養観察する。

観察終了日に、培養上清を採取し、0.5vol%鶏赤血球浮遊液を用いて赤血球凝集試験を行う。

###### 3.7.2.3.3 判定

培養細胞にCPEを認めず、培養上清に赤血球凝集を認めてはならない。

#### 3.8 不活化菌液の試験

##### 3.8.1 不活化試験

###### 3.8.1.1 ヘモフィルス・パラガリナルム

###### 3.8.1.1.1 試験材料

###### 3.8.1.1.1.1 接種材料

検体を接種材料とする。

###### 3.8.1.1.1.2 培地

ヘモフィルス試験用寒天培地又は適当と認められた培地を用いる。

###### 3.8.1.1.2 試験方法

接種材料0.1mLずつを2枚以上の培地に接種して培地表面に拡散させ、37℃、5 vol%炭酸ガス下で48時間培養後、集落の有無を観察する。

###### 3.8.1.1.3 判定

接種材料を接種した全ての培地上にヘモフィルス・パラガリナルムの集落を認めてはならない。

###### 3.8.1.2 マイコプラズマ・ガリセプチカム

###### 3.8.1.2.1 試験材料

###### 3.8.1.2.1.1 接種材料

検体を接種材料とする。

###### 3.8.1.2.1.2 培地

マイコプラズマ試験用寒天平板培地又は適当と認められた培地を用いる。

###### 3.8.1.2.2 試験方法

試料0.1mLずつを2枚以上の寒天平板培地に接種して培地表面に拡散させ、37℃、5 vol%炭酸ガス下で適当と認められた期間培養後、集落の有無を観察する。

###### 3.8.1.2.3 判定

全ての寒天培地上にマイコプラズマ・ガリセプチカムの集落を認めてはならない。

### 3.9 原液の試験

#### 3.9.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

### 3.10 小分製品の試験

#### 3.10.1 特性試験

一般試験法の特性試験法を準用して試験するとき、固有の色調を有する均質な懸濁液でなければならない。異物及び異臭を認めてはならない。小分容器ごとの性状は、均一でなければならない。

#### 3.10.2 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

#### 3.10.3 ホルマリン定量試験

適当と認められた方法で試験品を処理したものを試料とし、一般試験法のホルマリン定量法を準用して試験するとき、ホルマリン含有量は、0.06vol%以下でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合は、そのホルマリン含有量とする。

#### 3.10.4 安全試験

##### 3.10.4.1 試験材料

###### 3.10.4.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

###### 3.10.4.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格1.1に適合した発育鶏卵由来の5週齢の鶏を用いる。

##### 3.10.4.2 試験方法

試験動物の10羽を試験群、3羽を対照群とする。

注射材料1羽分ずつを試験群の胸部筋肉内に注射し、対照群と共に5週間観察する。

##### 3.10.4.3 判定

観察期間中、試験群及び対照群に臨床的な異常を認めてはならない。

#### 3.10.5 力価試験

##### 3.10.5.1 ニューカッスル病力価試験

###### 3.10.5.1.1 試験材料

###### 3.10.5.1.1.1 試験動物

3.10.4の試験に用いた試験動物を用いる。

###### 3.10.5.1.1.2 赤血球凝集抗原

「ニューカッスル病診断用赤血球凝集抗原」を用いる。

###### 3.10.5.1.2 試験方法

3.10.4の試験最終日に試験群及び対照群から得られた各個体の血清について、ニューカッスル病ウイルス赤血球凝集抑制試験を行う。

###### 3.10.5.1.3 判定

赤血球の凝集が抑制された血清の最高希釈倍数を赤血球凝集抑制抗体価（以下この項において「HI抗体価」という。）とする。

試験群の80%以上がHI抗体価80倍以上でなければならない。この場合、対照群では、全てHI抗体価5倍以下でなければならない。

##### 3.10.5.2 鶏伝染性気管支炎力価試験

###### 3.10.5.2.1 試験材料

###### 3.10.5.2.1.1 試験動物

3.10.4の試験に用いた動物を用いる。

###### 3.10.5.2.1.2 中和試験用ウイルス

それぞれの製造用株を用いる。ただし、そのウイルス量は、3.5.1.2に従いウイルス価を測定する

とき、1 mL中 $10^{5.0}$ EID<sub>50</sub>以上でなければならない。

#### 3.10.5.2.1.3 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格1.1に適合した9～10日齢のものを用いる。

#### 3.10.5.2.2 試験方法

3.10.4の試験最終日に、試験群及び対照群から得られた血清について、ウイルス希釈法により中和試験を行う。血清は、それぞれ各群ごとに等量プールし、非働化する。

中和試験用ウイルスをリン酸緩衝食塩液で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を3群に分け、第1群には試験群のプール血清を、第2群には対照群のプール血清を、第3群にはウイルス対照としてリン酸緩衝食塩液を、それぞれ等量加えて混合する。これらの混合液を4℃で18～24時間又は37℃で60分間処理する。処理した試料0.1mLずつを5個以上の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、37℃で9日齢を用いた場合は9日間培養、10日齢を用いた場合は8日間培養観察する。試験最終日に鶏胚の変化を観察する。

#### 3.10.5.2.3 判定

鶏胚に死亡又は変性（発育不全、カーリング）を認めたものを感染したものとみなし、EID<sub>50</sub>を求め、中和指数を算出する。ただし、24時間以内に死亡したものは、除外する。

試験群のそれぞれの株に対する中和指数は、対照群に対し2.0以上でなければならない。この場合、対照群の中和指数は、ウイルス対照に対し1.0以下でなければならない。

#### 3.10.5.3 産卵低下症候群－1976ウイルス力価試験

##### 3.10.5.3.1 試験材料

###### 3.10.5.3.1.1 試験動物

3.10.4の試験で用いた鶏を用いる。

###### 3.10.5.3.1.2 赤血球凝集抗原

産卵低下症候群－1976ウイルス赤血球凝集抗原（付記4）を用いる。

##### 3.10.5.3.2 試験方法

3.10.4の試験最終日に試験群及び対照群から得られた各個体の血清について赤血球凝集抑制試験を行う。

血清1容に25w/v%カオリン液（付記5）3容を加えて処理した後、遠心した上清を採取する。これをリン酸緩衝食塩液で2倍階段希釈し、各希釈血清25μLに等量の4単位の産卵低下症候群－1976ウイルス赤血球凝集抗原を加えて混合し反応させた後、0.5vol%鶏赤血球浮遊液を50μLずつ加えて振とう混合し、静置した後に赤血球凝集の有無を観察する。

##### 3.10.5.3.3 判定

赤血球の凝集が抑制された血清の最高希釈倍率をHI抗体価とする。

試験群の80%以上がHI抗体価32倍以上でなければならない。この場合、対照群では、全てHI抗体価4倍以下でなければならない。

#### 3.10.5.4 鶏伝染性コリーザ（A・C型）力価試験

##### 3.10.5.4.1 試験材料

###### 3.10.5.4.1.1 試験動物

3.10.4の試験に用いた動物を用いる。

###### 3.10.5.4.1.2 赤血球凝集抗原

「鶏伝染性コリーザ（A型）診断用赤血球凝集抗原」及び「鶏伝染性コリーザ（C型）赤血球凝集抗原」を用いる。

##### 3.10.5.4.2 試験方法

3.10.4の試験最終日に試験群及び対照群から得られた各個体の血清について、鶏伝染性コリーザ（A型）赤血球凝集抑制試験及び鶏伝染性コリーザ（C型）赤血球凝集抑制試験を行う。

##### 3.10.5.4.3 判定

赤血球の凝集が抑制された血清の最高希釈倍数をHI抗体価とする。HI抗体価5倍以上を陽性とする。

それぞれの赤血球凝集抑制反応において、試験群の70%以上が陽性でなければならない。この場合、対照群では、全て陰性でなければならない。

### 3.10.5.5 マイコプラズマ・ガリセプチカム感染症力価試験

#### 3.10.5.5.1 試験材料

##### 3.10.5.5.1.1 試験動物

3.10.4の試験に用いた動物を用いる。

##### 3.10.5.5.1.2 赤血球凝集抗原

マイコプラズマ・ガリセプチカム赤血球凝集抗原（付記6）を用いる。

#### 3.10.5.5.2 試験方法

3.10.4の試験最終日に試験群及び対照群から得られた各個体の血清について、マイコプラズマ・ガリセプチカム赤血球凝集抑制試験を行う。

血清をリン酸緩衝食塩液で2倍階段希釈し、各希釈血清25 $\mu$ Lに等量の4単位のマイコプラズマ・ガリセプチカム赤血球凝集抗原を加えて混合し、15～20分間処理した後、0.25vol%の鶏赤血球浮遊液を50 $\mu$ Lずつ加えて振とう混合し、4 $^{\circ}$ Cで一夜又は室温で120分間処理した後、赤血球凝集の有無を観察する。

#### 3.10.5.5.3 判定

赤血球の凝集が抑制された血清の最高希釈倍数をHI抗体価とする。

試験群のHI抗体価の幾何平均値は、8倍を超えなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その幾何平均値とする。この場合、対照群は、全てHI抗体価4倍未満でなければならない。

## 4 貯法及び有効期間

有効期間は、3年間とする。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その期間とする。

### 付記1 ヘモフィルス試験用寒天培地

1,000mL中

鶏肉水	300.0 mL
カゼインペプトン	5.0 g
カザミノ酸	2.0 g
L-グルタミン酸水素ナトリウム一水和物	2.0 g
塩化ナトリウム	5.0 g
寒天	15.0 g
非働化鶏血清	10.0 mL
5% $\beta$ -ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NAD)	0.1 mL
水酸化ナトリウム	適量
精製水	残量

非働化鶏血清及び5% $\beta$ -NAD以外の成分を精製水に溶解、pH7.3に調整し、高圧滅菌後、非働化鶏血清及び0.1 $\mu$ mのフィルターでろ過滅菌した5% $\beta$ -NADを添加する。

### 付記2 マイコプラズマ希釈用培地

1,000mL中

牛心筋浸出液	6.0 g
獣肉製ペプトン	10.0 g
塩化ナトリウム	5.0 g

馬血清	100.0 mL
非働化豚血清	50.0 mL
25w/v% 新鮮酵母抽出液	50.0 mL
$\beta$ -NAD (酸化型)	0.1 g
L-システイン塩酸塩	0.1 g
0.2w/v% フェノールレッド液	10.0 mL
ベンジルペニシリンカリウム	50万単位
酢酸タリウム	0.2 g
精製水	残 量

血清以外を混合し、0.22  $\mu$ m フィルターでろ過滅菌後、血清を加える。

付記3 マイコプラズマ試験用寒天平板培地  
付記2に1w/v%のバクト・アガーを加えたもの。

付記4 産卵低下症候群-1976ウイルス赤血球凝集抗原  
産卵低下症候群-1976ウイルスJPA-1株又はこれと同等と認められた株を生ワクチン製造用材料の規格1.3に適合した発育あひる卵で増殖させて得た尿膜腔液又は生ワクチン製造用材料の規格2.1.3に適合した鶏胚肝初代細胞で増殖させて得た培養上清に0.2vol%になるようにホルマリンを加えて不活化したもの。赤血球凝集 (HA) 価を測定するとき、HA価は64倍以上のもの。

付記5 25w/v%カオリン液  
100mL中  
カオリン 25 g  
リン酸緩衝食塩液 残 量  
高圧滅菌又はアジ化ナトリウムを0.01w/v%添加した後、2~10°Cに保存する。

付記6 マイコプラズマ・ガリセプチカム赤血球凝集抗原  
製造用株を培養し、ホルマリンを加えて不活化した菌液を遠心洗浄後、再浮遊し、これにグリセリンを等量加え、凍結して-20°C以下で保存したもの。